

EXTRACT FROM BARKS OF "SENDAN" TREE WITH POLAR ORGANIC SOLVENT AND ANTINEOPLASTIC CONTAINING THE SAME AS ACTIVE INGREDIENT

Patent Number: JP58024523
Publication date: 1983-02-14
Inventor(s): SHIMIZU MASAKI; others: 01
Applicant(s): TERUMO KK
Requested Patent: JP58024523
Application Number: JP19810122932 19810807
Priority Number(s):
IPC Classification: A61K35/78
EC Classification:
Equivalents: JP1405167C, JP62013931B

Abstract

PURPOSE: The titled preparation that contains, an active ingredient, an extract resulting from extraction of barks of SENDAN (*Melia azedarach*) with a polar organic solvent.

CONSTITUTION: Barks of SENDAN, a brown powder, are extracted with a polar organic solvent such as methanol or ethanol for several hours to 2 days to obtain an extract. The resultant extract is used as an active ingredient to make an antineoplastic and antibiotic. It is prepared by putting the dried powder of the above extract in a vessel such as a vial and providing another ampule containing a physiological salt solution, a glucose solution or a carboxymethyl-cellulose suspension and injected, when applied, after dissolving or suspending the powder in the solution or suspension. It may be injected in a form of emulsion.

Data supplied from the **esp@cenet** database - I2

⑨ 日本国特許庁 (JP) ⑩ 特許出願公開
⑪ 公開特許公報 (A) 昭58-24523

⑫ Int. Cl.³
A 61 K 35/78

識別記号
ADU
ADZ

厅内整理番号
7138-4C
7138-4C

⑬ 公開 昭和58年(1983)2月14日
発明の数 4
審査請求 未請求

(全 7 頁)

⑭ センダン樹皮の極性有機溶媒抽出物並びにそれを有効成分とする抗悪性新生物剤および抗歯剤

7号

⑮ 発明者 首藤忠志
東京都渋谷区本町5丁目25番2号

⑯ 特願 昭56-122932
出願 昭56(1981)8月7日

⑰ 出願人 テルモ株式会社
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目44番1号

⑱ 発明者 清水正樹
東京都中野区弥生町3丁目12番

⑲ 代理人 弁理士 西村公佑

明細書

1. 発明の名称

センダン樹皮の極性有機溶媒抽出物並びにそれを有効成分とする抗悪性新生物剤および抗歯剤

出処理して得られるセンダン樹皮の極性有機溶媒抽出物。

2. 特許請求の範囲

- (1) センダン樹皮を極性有機溶媒で抽出処理して得られるセンダン樹皮の極性有機溶媒抽出物。
- (2) 極性有機溶媒がアルコールである特許請求の範囲第1項記載のセンダン樹皮の極性有機溶媒抽出物。
- (3) アルコールがメタノールである特許請求の範囲第1項記載のセンダン樹皮の極性有機溶媒抽出物。
- (4) アルコールがエタノールである特許請求の範囲第1項記載のセンダン樹皮の極性有機溶媒抽出物。
- (5) センダン樹皮を非極性有機溶媒で抽出前処理し、得られた抽出液を極性有機溶媒で抽

(6) 非極性有機溶媒がベンゼンである特許請求の範囲第5項記載のセンダン樹皮の極性有機溶媒抽出物。

(7) センダン樹皮を極性有機溶媒で抽出処理して得られるセンダン樹皮の極性有機溶媒抽出物を有効成分とする抗悪性新生物剤。

(8) センダン樹皮を極性有機溶媒で抽出処理して得られるセンダン樹皮の極性有機溶媒抽出物を有効成分とする抗歯剤。

3. 発明の詳細な説明

1. 発明の背景

技術分野

本発明はセンダン樹皮の新規な極性有機溶媒抽出物に関する。本発明の抽出物は抗悪性新生物剤並びに抗歯剤として有用である。

先行技術

センダン樹皮は漢方で苦梗皮(クレンピ)と称し、煎じて回虫、鉤虫、象虫の駆除あるいはマラ

リア熱の治療に使用されている。しかし、センダン樹皮の極性有機溶媒抽出物は新規であり、また、センダン樹皮に抗悪性新生物作用または抗菌作用を有する成分が含まれていることは從来知られていない。

Ⅱ. 発明の目的

本発明者等は、センダン樹皮に含まれている成分の薬理作用について検査研究を重ねた結果、センダン樹皮を特定の溶媒で抽出して得られる成分が優れた抗悪性新生物作用を有し、また抗菌活性も示すことを知った。

従って本発明の目的は、第1に悪性新生物、殊に悪性腫瘍の治療並びに細菌感染症の治療に有効な新規センダン樹皮の抽出物を提供することにある。

本発明の目的は、第2に、センダン樹皮の抽出物を有効成分とする抗悪性新生物剤を提供することにある。

本発明の目的は、第3に、センダン樹皮の抽出物を有効成分とする抗菌剤を提供することにある。

本発明のセンダン樹皮の抽出処理に当り、極性有機溶媒による抽出処理操作に先立つて、非極性有機溶媒でセンダン樹皮を抽出前処理すると、不要な成分が除去されて効力の強いセンダン樹皮抽出物が得られる。抽出前処理で使用される非極性有機溶媒の例としては、ベンゼン、トルエン、キシレン、ヨーヘキサン、クロロホルム、四塩化炭素、酢酸エチル等が挙げられる。抽出前処理は、上記の溶媒をセンダン樹皮に加え、室温あるいは加熱して不要な成分を抽出除去することによって行なわれる。抽出前処理は通常、数時間乃至2日間である。抽出前処理後、混合物を沪過し、残渣を抽出工程に供する。

本発明におけるセンダン樹皮抽出物の特性は次の通りである。

1) 色と形状

褐色粉末

2) 紅外線吸収スペクトル

第1図に示す通りである（実施例4メタノール画分）。

特許昭58-24523(2)

Ⅲ. 発明の具体的説明

本発明の抽出物は、センダン樹皮を極性有機溶媒で抽出処理することによって得られる。

本発明において、センダン樹皮とは、センダン (*Melia azedarach L. var. Japonica Makino*)、タイワンセンダン (*Melia azedarach L.*) またはトウセンダン (*Melia azedarach var. toosendan Makino*) の樹皮を意味する。樹皮は乾燥細断したものが宜ましく、市販の苦楝皮が好適に使用される。

本発明のセンダン樹皮抽出物は、上記樹皮に極性有機溶媒を加え、室温あるいは加熱して抽出処理し、抽出混合物を沪過し、加液から溶媒を除去することによって得られる。抽出溶媒として使用される極性有機溶媒の例としては、メタノール、エタノール、ユーロロバノール、イソプロパノール、ローブタノールのようなアルコール、ビリジン、アセトン等が挙げられる。アルコール特にメタノールまたはエタノールが好適である。抽出処理時間は、原料の種類、品質等に従って適宜決定されるが通常数時間乃至2日間程度である。

UV λ_{max} 293 nm (アルカリ条件)

280 nm (酸性条件)

279 nm (中性条件)

3) 赤外線吸収スペクトル

第1図に示す通りである（実施例4メタノール画分）。

IR ν_{max} cm⁻¹: 1610, 2930, 3350~3400

4) 溶解性

メタノール、エタノールに可溶、ベンゼン、酢酸エチルに不溶。

5) 急性毒性

ICR 雄4週令マクス（体重20±1g）腹腔内投与で LD₅₀=260mg/kg であった。

本発明のセンダン樹皮抽出物は、各種の悪性腫瘍および細菌感染症の治療に有用であり、その投与形態としては、例えば皮下注射、静脈内注射、筋肉内注射による非経口投与、または鏡剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、ショップ剤等による経口投与または軟膏による経皮投与をあげることができる。本抽出物の投与量は投与経路、患者の年令、

体重、症状によって異なるが成人男子に対して1日約1～5gである。

本発明の抽出物は、常法に従って乾燥化され投与される。例えば、本抽出物の乾燥粉末をバイアル等の容器にいれ、別にアンプル等の容器に生理食塩水、アドク糖液あるいはカルボキシメチルセルロース(CMC)懸濁液を用意し、用時粉末を懸濁液解して注射する。その他、エマルジョンにして注射してもよい。例えば油中水(W/O)型エマルジョンの場合は洗剤パラフィン等の低沸点油、グマ油、ビーナツ油等の植物油にソルビタン脂肪酸エーゲル等の界面活性剤を組み合せて用いる。

次に実施例および製剤例をあげて本発明をさらに具体的に説明する。

実施例1.

センダンの乾燥樹皮300gにメタノール300mlを加え室温で1日抽出処理を行なった。抽出混合物を汎過してメタノール抽出液を得た。抽出残渣に再びメタノール300mlを加え、上記と同様に抽出処理を行なった。この操作を計3回行ない、

なった。この操作を計3回行ない、メタノール抽出液3回分を集め、ロータリーエバポレーターを用いて濃縮乾固し、粉末化して本発明のセンダン樹皮抽出物を得た。これをメタノール百分とする。ベンゼン百分45.0%、メタノール百分48.0.2%が得られた。

実施例4.

センダンの乾燥樹皮の代りに市販の苦棟皮を使用する以外は、実施例3と同様に抽出前処理および抽出処理を行なってベンゼン百分42.1.1%およびメタノール百分99.3.5%が得られた。

実施例5.

メタノールによる抽出処理を室温で行なう代りに加熱電流して行なう以外は実施例3と同様に抽出前処理および抽出処理を行なってベンゼン百分43.9.2%およびメタノール百分52.1.5%が得られた。

実施例6.

センダンの樹皮の代りに苦棟皮を使用する以外は実施例5と同様に抽出前処理および抽出処理を

特開昭58-24523(8)

メタノール抽出液3回分を集め、ロータリーエバポレーターを用いて濃縮乾固し、粉末化した。これをメタノール百分とする。メタノール百分58.5.6%が得られた。

実施例2.

メタノールの代りにエタノールを用いる以外は実施例1と同様に抽出処理を行ない、50.6.8%のエタノール百分を得た。

実施例3.

センダンの乾燥樹皮300gにベンゼン300mlを加え、室温で1日抽出前処理操作を行なった。抽出混合物を汎過し、残渣に再びベンゼン300mlを加えて上記と同様に抽出前処理操作を行なった。この操作を計3回行ない、ベンゼン抽出液3回分を集め、ロータリーエバポレーターを用いて濃縮乾固し、粉末化した。これをベンゼン百分とする。抽出前処理操作で得られた抽出残渣にメタノール300mlを加え、室温で1日抽出操作を行なった。抽出混合物を汎過し、残渣に再びメタノール300mlを加えて上記と同様に抽出操作を行

なってベンゼン百分41.5.9%およびメタノール百分101.3.1%が得られた。

製剤例1.

センダン樹皮抽出液1000mlを無菌5%注射用アドク糖液500mlに溶解し、この溶液を5mlずつバイアルに無菌的に分注し、凍結乾燥した。このようにして1バイアル中10mgのセンダン樹皮抽出物を含む製剤を得た。用時、注射用蒸留水に溶解して使用する。

製剤例2.

上記製剤例1と同様にしてバイアル製剤をつくった。ただし、無菌5%注射用アドク糖液500mlの代りに生理食塩水500mlを使用した。用時、注射用蒸留水に溶解して使用する。

II. 発明の具体的な作用効果

上記実施例で得られたセンダン樹皮抽出物について抗悪性新生物作用および抗菌作用の効果を測定した。

試験例1.

ヒト細胞に対する効果

特許昭58- 24523(4)

表 1

L-5178Y細胞に対する効果

| 試 料 | IC ₅₀ (mcg/ml) |
|---------------|---------------------------|
| 実施例 1 メタノール画分 | 20 |
| 〃 2 エタノール画分 | 25 |
| 〃 3 ベンゼン画分 | >100 |
| 〃 4 メタノール画分 | 12 |
| 〃 4 ベンゼン画分 | 100 |
| 〃 4 メタノール画分 | 0.85 |
| 〃 5 ベンゼン画分 | >100 |
| 〃 5 メタノール画分 | 18 |
| 〃 6 ベンゼン画分 | 100 |
| 〃 6 メタノール画分 | 1.5 |

表1から本発明のセンダン樹皮抽出物（メタノールまたはエタノール画分）がマウス樹立リンパ細胞 L-5178Y に対して強い細胞毒性を有していることが明らかである。

（細胞調製）

1.0 モウシ胎児血清入り RPMI-1640 培地で4日間培養したマウスの L-5178Y 細胞を 1.0×10^5 個/ml となるように調整し、これを 96 穴リ底マイクロプレートに 1 穴 (250 μl 容) 当り 50 μl 入れだ。

（効果測定方法）

上記マイクロプレート杯、培地に落とした試料を 1 穴当り 50 μl 入れ、37℃で炭酸ガス培養器中で 48 時間培養した。培養後、各穴の細胞数を数え、試料を入れない対照のものと数を比較し、50% の細胞を死滅させるに必要な濃度を算出し、IC₅₀とした。結果を表1に示す。表中、試料は実施例番号で表示してあるが、これは該当する実施例で得られたセンダン樹皮抽出物を試料として使用したことを示す。表2においても同様である。

試験例 2.

ザルコーマ 180 腹水ガンに対する効果

（試験調製）

リン酸緩衝食塩水（ギブコ社製、リン酸 9.5 mM を含む； PBS ）に 0.5 モルガラシメチルセルロース（CMC）を懸濁させた溶液に所定濃度にすると各画分試料を溶解させた。

（ザルコーマ 180 ガン細胞移植）

ICR マウス腹腔中で代代培養したザルコーマ 180 ガン細胞を腹水とともにとり出し、生理食塩水で適当に希釈して細胞数が 1.0×10^8 個/ml となるよう調整した。この細胞懸濁液の 0.1 ml を 4 週令雌 ICR マウス腹腔へ注射器を用いて移植した。従って 1 匹あたりの移植細胞数は 1.0×10^7 個である。

（試料投与）

ザルコーマ 180 ガン細胞を移植した次の日より 1 日 1 回連続 4 日間、上に調製した試料を注射器を用いて 腹に 0.1 ml 投与した。1 試料 1 濃度につき 6 匹のマウスを使用した。対照は試料の溶

剤として用いた上記 CMC 入り PBS を同様に投与したものとした。投与量の表示はマウス体重 1 gあたりの ml 数とした。

（効果の判定法）

ガン細胞移植後 7 日目にそれぞれのマウスの体重を測定した。次に腹腔に貯まつた腹水を全量とり出した後のマウスの体重を測定した。腹水採取前の体重の差を腹水量とする。採取した腹水をヘマトクリット管に吸い込み、ヘマトクリット測定用ローターを用いて、低温で遠心分離し、血液のヘマトクリット値に相当するアサイトクリアト値を得た（腹水中に占めるガン細胞の割合）。腹水量にこの値を乘すれば全腹水中の細胞の容量が得られる。これを全細胞容量（トータル・ベックタ・セル・カリキュム； TPCV ）とする。対照では、全腹水量は 6 ~ 10 ml、 TPCV は、 1.6 ~ 2.5 ml となつた。

試料投与マウスの TPCV と対照投与マウスの TPCV の比 (T/C) をとて 100 ~ 86 % のものをガンに対する効果なし (-)、 65 ~ 41 % のものを

やや有効(+)、40~11%のものを有効(++)、10~0%のものを著効(++)とする。結果を表2に示す。

試験例3.

ザルコーマ180液型ガンに対する効果

(ザルコーマ180ガン細胞移植)

試験例2と同様にして 1.0×10^6 個/ mm^3 の細胞懸濁液を調製した。この懸濁液の0.1mlを4週令、雄ICRマウス背部皮下に注射器を用いて細胞を移植した。

(効果判定法)

ガン細胞移植後21日目に成長したガン組織を摘出し、その重量を測定した(1群6匹の平均値)。この重量と対照のものとの比(I/C)をとって効果判定を行った。対照のガン組織重量は1.5~3.5gであった。比の値が100~71%のものを無効(-)、70~51%のものをやや有効(+)、50~21%のものを有効(++)、20~0%のものを著効(++)とした。結果を表2に示す。

表2から、本発明のセンダン樹皮抽出物(メタノールまたはエタノール画分)がザルコーマ180液水ガン及び固型ガンに有効であることが明らかである。

また、実施例4のメタノール画分の最小有効投与量は次の通りである。

| | |
|--------------|----------|
| ザルコーマ180液水ガン | 1.1mg/kg |
| ザルコーマ180固型ガン | 5.0mg/kg |

試験例4.

ウニ卵細胞分裂阻止活性

本発明のセンダン樹皮抽出物について、ウニ卵を用いて細胞分裂阻止活性を次の方法で測定した。

イフンウニまたはムラサキウニの受精卵を試験管1本当たり200~800個海水2mlとともに入れた。これに殆んど同時に上記実施例で得られたセンダン樹皮抽出物の薄液(水溶液またはジメチルスルホキサイド溶液)0.2mlを加え、ウニ受精卵の細胞分裂状態を顕微鏡下で観察した。その結果を表3に示す。

特開昭58-24523(5)

| 試験 料 | 投与量 mg/kg | ザルコーマ180液型ガンに対する効果 (マウス) | | 評定 |
|-----------------|--------------|-----------------------------|---------------|----|
| | | I/C(%) | 増殖率 (%/kg) | |
| 実施例1 メタノール画分 | 100 | 24 | + | 40 |
| " 2 エタノール画分 | 100 | 33 | + | 44 |
| " 3 ベンゼン画分 | 100 | 84 | - | 80 |
| " 4 メタノール画分 | 100 | 47 | + | 69 |
| 実施例2 メタノール画分 | 50 | 55 | + | 90 |
| 実施例3 ベンゼン画分 | 100 | 56 | + | 83 |
| " 4 メタノール画分 | 50 | 15 | + | 26 |
| " 5 ベンゼン画分 | 50 | 18 | + | 70 |
| " 6 メタノール画分 | 25 | 47 | + | 89 |
| " 7 ベンゼン画分 | 100 | 90 | + | 83 |
| " 8 メタノール画分 | 100 | 41 | + | 92 |
| 実施例4 ベンゼン画分 | 100 | 66 | + | 95 |
| " 6 メタノール画分 | 50 | 17 | + | 38 |

表3
ウニ卵細胞分裂阻止活性

| 試験 料 | 分裂阻止濃度(mg/ml) | |
|-----------------|---------------|------|
| | ベンゼン画分 | 活性なし |
| 実施例3 メタノール画分 | 0.25 | |
| " 4 ベンゼン画分 | 0.25 | 活性なし |
| " 5 メタノール画分 | 0.25 | |

試験例5.

抗菌活性

実施例4で得られたセンダン樹皮のメタノール画分について普通殺菌を用いた希釈法で常法に従って抗菌活性を試験した。結果を表4に示す。表4に示すように、本メタノール抽出物はグラム陽性菌に対して抗菌活性を示す。

特開昭58- 24523 (6)

表 5
抗菌活性

| 菌 名 | 試料濃度 (mg/ml) | | |
|-----------------------------|--------------|-----|-----|
| | 1.0 | 0.5 | 0.1 |
| ミクココッカス・フラプス IID 888 | - | + | + |
| スタフィロコッカス・アウレオラス ATCC 6538P | - | + | + |
| バテルス・ズブチリス ATCC 6633 | - | + | + |
| ガルシナ・ルテア ATCC 9341 | - | + | + |
| シードモナス・エルギノバグ ATCC 27577 | + | + | + |
| エシュリヒア・コリ NIH3 | + | + | + |
| サムモネラ・チフイ ATCC 13314 | + | + | + |
| シケラ・ゾンネイ IID 969 | + | + | + |
| タレブシヌ・ニューモニエ IID 875 | + | + | + |
| プロテウス・ブルガリス IID 874 | + | + | + |

- : 菌が生育せず
+ : 菌が生育

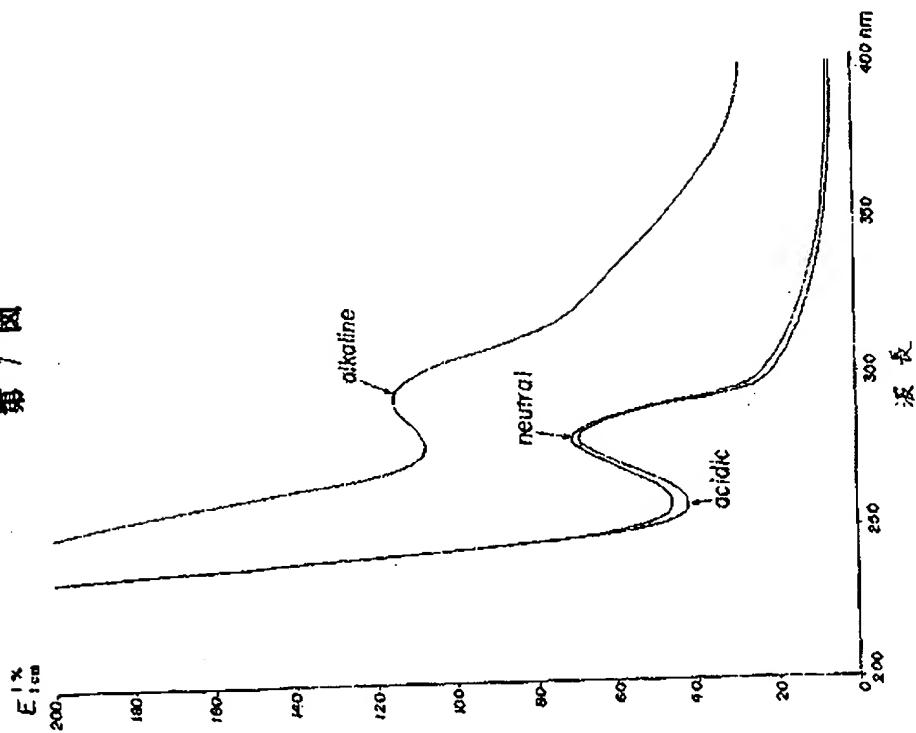
4. 図面の簡単な説明

第1図は実施例4で得られたセンダン樹皮抽出物(メタノール部分)の紫外線吸収スペクトルを示し、第2図は同物質の赤外線吸収スペクトルを示す。

特許出願人 テルモ株式会社
代理人弁護士西村公

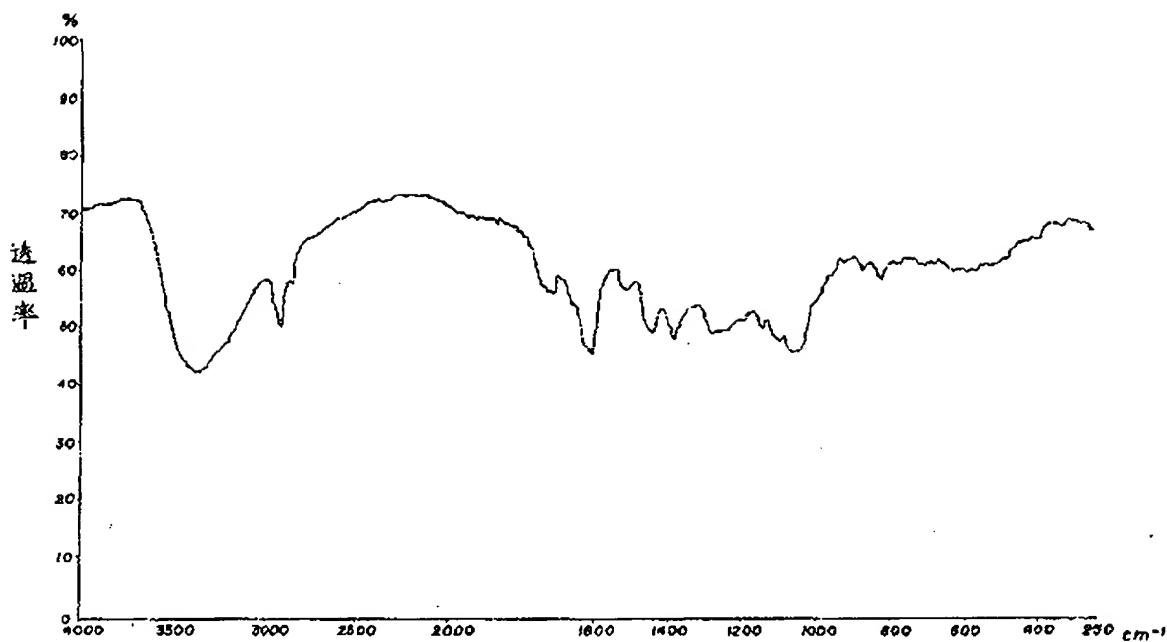


第1圖



特許58- 24523 (7)

第2 図



手 続 検 正 答(自発)

昭和56年11月24日

(1) 明細書第19頁第1行の「表5」を「表4」と訂正する。

特許庁長官 島田春樹成

以 上

1. 事件の要旨

昭和56年 第2号 特許出願人

2. 発明の名称 センノン樹皮の活性有機酸及其抽出物
並びにそれを有効成分とする抗悪性
新生物剤および抗真菌剤

3. 請求をする者

事件との関係 特許出願人

在
所

氏名(略) テルモ株式会社

4. 代理人

〒105
地 所 東京都港区西新橋1丁目4番19号
氏 名 外薬士(8085) 須 村 公

5. 調査命令の日付 (自発)

6. 調査結果の発表

7. 調査の対象

明細書の「発明の詳細な説明」の範

8. 調査の内容 別紙のとおり

昭 60 12 13 発行

特許法第17条の2の規定による補正の掲載

昭和 56 年特許願第 122938 号(特開 昭
58- 24523 号、昭和 58 年 2 月 14 日
発行 公開特許公報 58- 245 号掲載)につ
いては特許法第17条の2の規定による補正があっ
たので下記のとおり掲載する。 3 (3)

| Int.CI. | 識別記号 | 府内整理番号 |
|------------|------|---------|
| A61K 35/78 | ADU | 7138-40 |
| | ADZ | 7138-40 |

特許補正

昭和 60 年 9 月 17 日

特許庁監督 宇賀道郎 殿

1. 補正の文書

昭和 56 年特許願第 122932 号

2. 発明の名称

センダン剤の製造方法並びにそれを
有効成分とする医薬新生物質および抗瘧剤

3. 補正をする者

郵便との関係 告白出版人

住所 東京都渋谷区渋谷 2 丁目 4-1番 1 号

名前 オルモ株式会社

4. 代理人

住所 東京都千代田区麹町 3 下 2 号地(相互第一ビル)

電話 (261) 2022

氏名 (8035) 田村 公

片式
改進

明細書の発明の詳細を説明の欄



明細書の発明の詳細を説明の欄



5. 補正命令の日付 (自発)

6. 補正の内容

2. 補正の内容

第 16 頁表 2 において、最右欄(回型ガンの
判定の欄)第 2 行目の「+」を「#」と修正し
ます。

以上

(55) -/-